

삼해주와 시판 곡주의 생리 기능성 및 세포 독성 효과

임채란 · 손희진 · 조인영¹ · 김계원¹ · 최수진 · 김인선 · 한기영 · 최진영² · 노봉수*

서울여자대학교 식품공학과, ¹(주)국순당 부설 연구소, ²한북대학교 식품영양학과

Physiological Functionality and Cytotoxic Effect of Korean Traditional Noble Wine, *Samhaeju*, and Commercial Rice Wine on Various Tumor Cell Lines

Chae-Lan Lim, Hee-Jin Son, In-Young Cho¹, Gye-Won Kim¹, Soo-Jin Choi, In-Sun Kim, Kee Young Han, Jin Young Choi², and Bong Soo Noh*

Department of Food Science and Technology, Seoul Women's University

¹Kooksoondang Brewery Co., Ltd.

²Department of Food and Nutritional Sciences, Hanbuk University

Abstract This study was conducted to investigate the antioxidant activity, fibrinolytic activity and cytotoxic effect of Korean traditional noble rice wine made using different methods (A-C) and commercial rice wine (D-H) on various tumor cell lines. The antioxidant activity of rice wine was measured by DPPH (2,2-dipicryl-1-picrylhydrazyl), ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)] and NO (nitric oxide) radical scavenging assay. In this study, *Samhaeju* showed the greatest fibrinolytic activity of 13-17U and exhibited the highest antioxidant activity. Among the different *Samhaeju*, the sample prepared using method C had the highest antioxidant activity. The cytotoxic effect of rice wine were also examined against the human cancer cell line (A549 cells and HeLa cells) based on the results of a WST-1 assay and morphological changes. Rice wine induced the inhibition of cell proliferation and morphological changes in tumor cell lines in a concentration-dependent manner, with *Samhaeju* diluted 10 fold having the strongest effect on these factors. These findings suggest that Korean rice wine has antioxidant activity and cytotoxic effect, and that these factors are influenced by the method of preparation.

Key words: *Samhaeju*, antioxidant activity, fibrinolytic activity, cytotoxic effect

서 론

최근 주류에 관한 연구 중 적정량의 알코올 음료의 섭취는 심장질환 억제, 동맥경화 완화, 고혈압, 당뇨, 암 유발 억제 등 건강 및 질환에 긍정적인 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(1-6). 알코올 음료의 약리효과는 그 원료에 포함되어 있거나, 또는 발효과정 중에 생성된 물질의 복합 상승 작용에 의해 일어날 수 있지만 현재 전통주의 건강 또는 질병과 관련된 생리 활성에 관한 여러 가지 속설에 대하여 과학적인 접근은 미흡한 형편이다. Kim 등(7)은 민들레 전통주, Lee 등(8)은 캐모마일 전통주, Seo 등(9)은 아카시아 전통주 등을 제조하여 이들의 품질 특성과 생리 기능성을 조사하여 보고하였으며, Lee 등(10)은 구기자를 첨가한 전통주를 제조하였고, Kim 등(11)은 로즈마리를 첨가한 전통주를 제조하여 보고하였는데 대부분의 연구가 재료의 첨가에 따른 전통주의 품질 연구에 국한되어 있으며, 담금 시기, 방법, 재료에 따른 전통주의 생리 기능성이나 세포 독성 효과와 같은 품질 특성에 관한 자료는 부족하다. 한편, 근래에 소비양상이 점차 다양

화 되면서 전통주에 대한 인식, 홍보부족으로 전통주의 소비가 줄고 시장규모는 다소 위축되고 있다(12). 전통주에 대한 연구가 활발히 이루어지지 못하여 전통주 제조 방법에 대한 정확한 계승이 제대로 이루어지지 못하였으며 이로 말미암아 전통주 지정이나 세계시장 진출 등의 문제가 다소 어려움을 겪고 있는 실정이다(13,14). 그중 삼해주는 쌀과 누룩을 원료로 하여 만든 저온 장기 발효주로서 은은한 맛을 오래 보관할 수 있는 특징을 지니고 있다. 이것은 누룩 중의 미생물에 의한 효소 작용으로 원료 성분이 분해되어 생성된 유리당, 아미노산, 유기산 등의 맛 성분과 효모에 의한 알코올 발효로 휘발성 향기 성분이 생성되어 색과 함께 품질의 조화를 이루는 약주의 하나로서 정월 첫 해(亥) 일(폐지날)에 밀술을 담고 다음 돼지날만 골라 세 번에 걸쳐 빚어 만드는 술이다(15).

이런 전통주들은 과학적으로 입증된 자료가 부족하고 많은 사람들에게 잘 알려져 있지 못한 채 기억에서 멀어져 있는 상태이다. 옛 양반들 사이에서 음용되었던 반가주의 복원과 함께 이들 술의 과학적 우수성을 입증하고자 하는 노력이 최근 증대되고 있는 바 이를 널리 알려 많은 사람들로 부터 사랑받는 전통 식품이 되도록 하기 위하여 반가주 중의 하나인 삼해주를 제조하였다. 또한, 비교 분석을 위해 판매량이 높으며 주원료가 쌀인 시판 곡주 5가지를 선정하여 생리활성 및 암세포의 성장에 어떠한 영향을 미치는지에 대해 비교 조사함으로써 잊혀져가고 있는 전통주의 우수함을 널리 알리고자 하였다.

*Corresponding author: Bong Soo Noh, Department of Food Science and Technology, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea
Tel: 82-2-970-5636
Fax: 82-2-970-5977
E-mail: bsnoh@swu.ac.kr
Received December 26, 2008; revised October 1, 2009;
accepted October 2, 2009

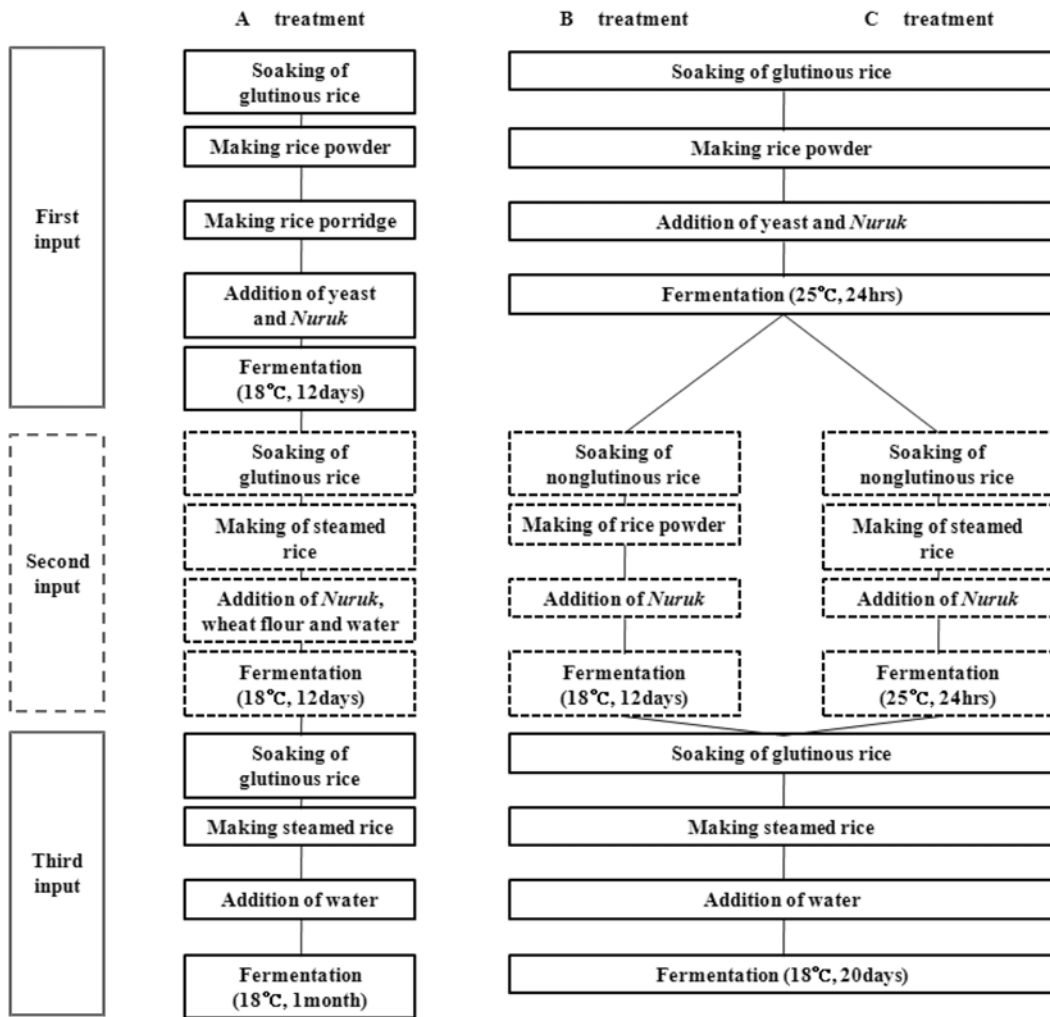


Fig. 1 Different brewing methods for production of Korean traditional noble wines, *Samhaeju*.

재료 및 방법

시료

삼해주는 (주)국순당에서 제조한 효모 및 누룩을 이용하여 기존의 문헌(15)에 소개된 제조 방법 중 일부를 변형하여 Fig. 1과 같이 3가지 방법으로 (주)국순당에서 제조하였다. 시판 시료는 Table 1과 같이 국내에서 시판되는 곡주 5종(알코올 함량 13-14%)을 시중에서 일괄 구입하여 분석하였다. 모든 시료는 evaporator(N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 40°C에서 감압 농축하여 알코올 부분을 제거하였으며, 다시 증류수를 가해 원래의 부피로 정용하여 시료로 사용하였다.

항산화능: DPPH 라디칼 제거능

곡주의 전자공여능 측정은 DPPH의 환원성을 이용하여 측정하였다. 메탄올에 녹인 DPPH 용액(DPPH 20 mg을 methanol 100 mL에 용해)을 시료에 가한 후 실온에서 30분간 암실에서 반응시키고, microplate reader(Molecular Devices Spectra Max 250, GMI, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로서 L-ascorbic acid를 농도별로 동량 첨가하였으며, 시료의 DPPH 라디칼 제거능은 표준물질과 비교 산출하여 ascorbic acid equivalents antioxidant capacity의 약어인 AEAC (µg/mL)로 나타내었다(16).

항산화능: 아질산염 소거활성

아질산염 소거 활성은 Gray와 Dugan(17)의 방법을 약간 변형하여 각 시료 50 µL에 0.125 mM의 nitrite sodium 용액 50 µL와 5% 인산 용액에 녹인 1% sulfanilamide를 동량 첨가한 후 5분간 반응시켰다. 반응액에 0.1% NED(N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride) 시약을 첨가하여 발색시켰으며, 실온에서 30분간 반응 후 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 아질산염 소거활성 역

Table 1. Commercial rice wines and their ingredients

Sample ID	Solid ingredient
A	glutinous rice, <i>Nuruk</i> , yeast, wheat flour
B	glutinous rice, <i>Nuruk</i> , yeast, nonglutinous rice
C	glutinous rice, <i>Nuruk</i> , yeast, nonglutinous rice
D	nonglutinous rice (92.2%), glutinous rice (7.8%)
E	rice, ginkgo nut, seed of evening primrose
F	nonglutinous rice, starch, <i>gugija</i> (<i>Lycii fructus</i>), <i>omija</i> (<i>Schizandra chinensis fructus</i>), ginseng
G	rice, starch, <i>Nuruk</i> , <i>Crataegus innatifida</i> B, <i>Cornus officinalis</i> S.
H	nonglutinous rice (100%)

시 DPPH 라디칼 제거능과 동일하게 AEAC($\mu\text{g/mL}$) 값으로 시료의 항산화능을 나타내었다.

총 항산화력: ABTS 라디칼 제거능

총 항산화력의 측정은 ABTS radical cation decolorization assay 법에 의해 시행하였다(18). 7.4 mM의 ABTS 용액과 2.6 mM의 potassium persulphate 용액을 하루 동안 암소에서 방치하여 ABTS 라디칼을 형성시킨 후 phosphate-buffered saline 완충용액으로 희석하여 사용하였다. ABTS 라디칼 용액을 시료액에 첨가하여 암소에서 90분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS 라디칼 제거능은 DPPH 라디칼 제거능과 동일하게 AEAC($\mu\text{g/mL}$) 값으로 시료의 항산화능을 나타내었다.

혈전용해활성

혈전용해활성은 Haverkate-Traas의 fibrin법(19)을 일부 변형시켜 측정하였다. 170 μL 의 시료에 0.1 M McIlvaine 완충용액(pH 7.0)에 0.6% fibrin을 녹인 기질용액 1 mL를 첨가한 후 40°C에서 10분간 반응시켰다. Trichloroacetic acid 용액 1 mL를 첨가하여 반응을 종료시킨 후 30분 후에 Whatman No. 2(Whatman, Maidstone, England) 여과지를 이용하여 여과하였다. 30 μL 의 여과액에 0.4 M sodium carbonate 용액 150 μL , 1 N folin 시약(Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) 30 μL 를 첨가하여, 여과액 중의 tyrosine을 실온에서 30분간 발색시킨 후 microplate reader를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 이때 효소 1 unit은 시료 1 mL가 1분 동안에 tyrosine 1 μg 을 생산하는 활성으로 표현하였다.

세포배양

HeLa(human cervix adenocarcinoma), A549(human lung carcinoma), L-132(human fetal lung cell)의 각 세포주들은 한국세포주은행(Korea cell line bank, Seoul, Korea)에서 분양받았다. 10% fetal bovine serum(FBS, WelGENE Co., Daegu, Korea)이 포함된 RPMI 1640(PAA Laboratories GmbH, Pasching, Austria) 배양액에서 HeLa, A549 세포, 10% FBS가 첨가된 DMEM 배양액에서 L-132 세포를 각각 배양하였으며, 세포배양을 위해 세포배양기(37°C, 5% CO₂)를 이용하였다.

세포독성(cytotoxicity) 측정

세포 독성 효과는 생세포 내의 미토콘드리아 탈수소효소에 의한 tetrazolium염을 formazan 색소로 변환하는 것을 기본으로 하여 세포 증식 능력이나 세포 생존 능력을 알 수 있는 premix WST-1(water-soluble tetrazolium salt) cell proliferation assay system(Cat. No. 630118, Takara, Kusatsu, Japan)을 사용하였다. 각 세포주들을 96 well tissue culture plate에 5 \times 10³ cell/well 접종한 후, 다음날 동결건조한 시료를 세포 배양에 이용했던 RPMI 1640, DMEM 배양액으로 각각 2배씩 단계적으로 희석하여 세포에 처리하고 72시간 동안 배양한 후 WST-1 시약을 10 μL /well 첨가하여 4시간 더 배양한 후 ELISA reader로 450 nm(ref. 660 nm)에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 3 well씩 3회 실시하여 평균값을 사용하였으며, 실험군의 세포 성장 저해율은 대조군에 대한 저해율로 나타내었다.

형태학적 관찰(photomicrography)

세포의 형태학적인 변화를 관찰하기 위해 각각의 세포들은 세포독성 실험과 비교 분석을 위해 WST-1과 동일한 방법으로 배

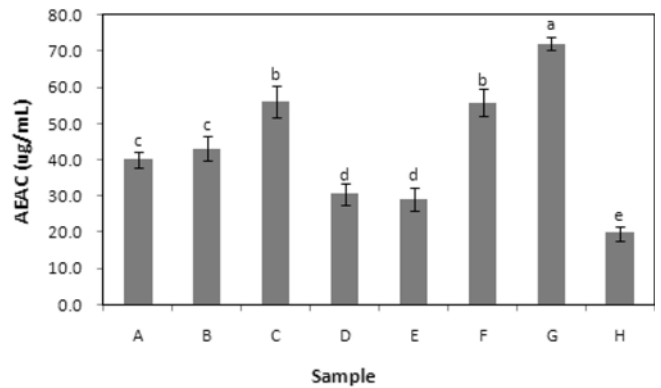


Fig. 2. Antioxidant activities of fermented alcoholic beverages determined by DPPH. A, B, C: *Samhaeju*; D, E, F, G, H: commercial rice wines. Bars with different letters (a-e) for each sample are significantly different (LSD test, $p < 0.05$).

양하였다. 즉, 6 well plate에 각 세포주를 5 \times 10³ cell/well 접종한 후 다음날 동결건조한 시료를 세포 배양에 이용했던 RPMI 1640, DMEM 배양액으로 각각 2배씩 단계적으로 희석하여 세포에 처리하고 72시간 동안 배양한 후 시험군과 대조군의 세포모양을 광학현미경(Carl Zeiss, Jena, Germany)을 이용하여 관찰하였고, 여기에 장착된 카메라를 이용하여 400배율로 사진을 찍어 비교하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복 실험하였으며, SAS package(Statistical Analysis System, version 8.1, SAS Institute Inc. Cary, NC, USA)를 이용하여 Duncan's multiple range test를 행하여 각 시험군의 평균과 표준편차를 산출하고 각 시험군 간의 유의차를 5% ($p < 0.05$) 유의수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

삼해주의 알코올 농도는 12도로서 시판 곡주와 유사하였으며, 본 실험에서는 알코올을 제거한 후 남아있는 미량의 물질이 기능성을 갖고 있는지 살펴보고자 하였다. 그 중에서도 특별히 항산화능과 혈전용해능 그리고 세포 독성효과를 관찰하였다.

항산화능: DPPH 라디칼 제거능

DPPH 라디칼 제거능은 DPPH 라디칼 특유의 보라색이 삼해주 내 항산화제의 작용에 의하여 수소 혹은 전자를 받음으로써 안정한 형태의 화합물로 전환되어 라디칼 용액이 옅은 노란색으로 변하는 것을 원리로 분석하였다. DPPH 라디칼을 항산화활성 측정에 사용하였을 경우 빠른 시간 내에 항산화력을 비교할 수 있는 장점을 가지고 있다. 본 연구에서 DPPH 라디칼 제거능은 표준물질로 수용성인 ascorbic acid를 사용하여 AEAC값으로 산출하였으며, 그 결과는 Fig. 2과 같다. AEAC 값이 가장 높은 G 시료의 경우 72.2 μg ascorbic acid equivalent/mL의 항산화력을 지니는 것으로 해석할 수 있으며, H 시료의 경우 19.7 $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 낮은 활성을 나타내었다. 이는 G 시료의 경우 tellimagrandin 1, tellimagrandin 2, isoterchebin(Cornus-tannin 1), 1,2,3-tri-*O*-galloyl- β -glucose, 1,2,6-tri-*O*-galloyl- β -D-glucose, 1,2,3,6-tetra-*O*-galloyl- β -D-glucosegemin D, cornusiin A, B, C 2,3-di-*O*-galloyl-D-glucose, cornusiin D, E와 F, 1,7-di-*O*-galloyl-D-sedoheptulose-tannin과 같은 항산화 활성이 강한 tannin류의 성분을 함유한 산수유

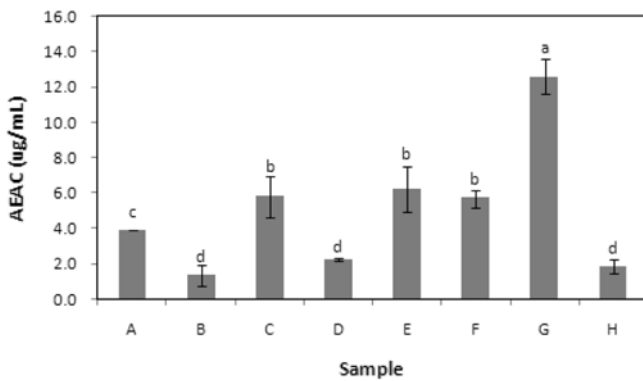


Fig. 3. Antioxidant activities of fermented alcoholic beverages determined by nitrite-scavenging effect. Letters are the same as shown Fig. 2. Bars with different letters (a-d) for each sample are significantly different (LSD test, $p < 0.05$).

(20)의 첨가로 인한 것으로 여겨지며, H 시료의 경우 다른 재료의 첨가 없이 오직 쌀만을 원료로 하였기에 오미자, 은행, 산수유 등을 첨가한 다른 시험구와 비교 시 항산화 활성이 상대적으로 적은 것으로 나타났다.

항산화능: 아질산염 소거활성

아질산염은 식육 등에 첨가하여 색상 유지, 독소 및 산패 형성을 억제하는데 널리 이용되고 있으나, 아민을 함유하고 있는 음식물을 섭취했을 때 발암성 물질인 nitrosamine을 생성하는 것으로 알려져 있다. 이 nitrosamine의 일부가 체내에서 diazoalkane으로 전환되어 핵산이나 단백질 또는 세포내 성분을 알킬화함으로써 암을 유발하기도 하고 아질산염은 그 자체가 독성을 나타내어 일정 농도 이상 섭취하게 되면 혈액 중의 hemoglobin이 산화되어 methemoglobin을 형성하는 methemoglobin증 등의 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다(21,22). 이러한 nitrosamine 생성 반응은 nitrite와 반응할 수 있는 화합물에 의해 억제될 수 있다. Nitric oxide(NO)의 측정은 반감기가 극히 짧은 NO 대신에 그 대사물인 nitrite 및 nitrate를 측정함으로써 NO의 생성을 정량적으로 유추할 수 있다. 아질산염 소거능 역시 AEAC로 나타내었으며 그 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같다. DPPH 라디칼 제거능과 마찬가지로 G 시료가 12.6 µg/mL로 가장 강한 활성을 나타내었으며 C, E, F 시료가 5.7-6.2 µg/mL로 비교적 높은 활성을 보였다. Cooney와 Ross(23)는 phenolic, guaiacol, resorcinol 등의 페놀성 물질은 nitroso화 반응을 강력하게 억제한다고 하였으며, Kato 등(24)은 아질산염 소거능이 있는 물질은 phenolic 화합물 또는 melanoidin이 관여하는 것으로 보고하였는데, 본 실험에서는 G 시료의 재료로 사용된 산수유의 페놀성 물질에 의하여 G 시료의 아질산염 소거능이 높게 나온 것으로 여겨진다.

총 항산화능: ABTS 라디칼 제거능

ABTS 방법은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS 라디칼이 시료의 항산화력 물질에 의해 제거되어 라디칼 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용한 측정방법이다. 이 방법은 수소공여항산화제(hydrogen-donating antioxidants)와 연쇄절단형 항산화제(chain-breaking antioxidants) 모두를 측정할 수 있고, 수용상(aqueous phase)과 유기상(organic phase) 모두에 적용이 가능하며 표준물질을 사용함으로써 시료 간 상대비교가 가능하다(18). 삼해주 C가 197.8 µg/mL로 가장 높은 항산화능을 보였으며 B,

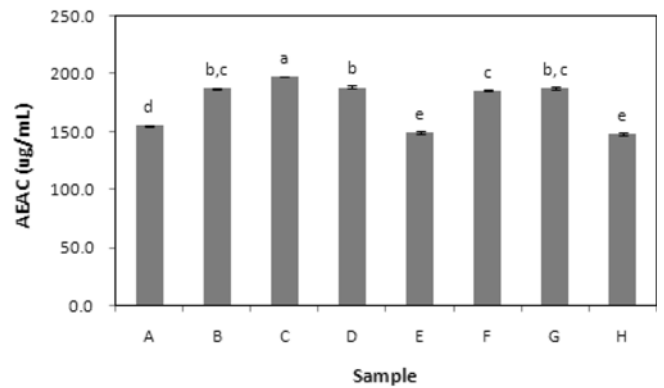


Fig. 4. Antioxidant activities of fermented alcoholic beverages determined by ABTS. Letters are the same as shown Fig. 2. Bars with different letters (a-e) for each sample are significantly different (LSD test, $p < 0.05$).

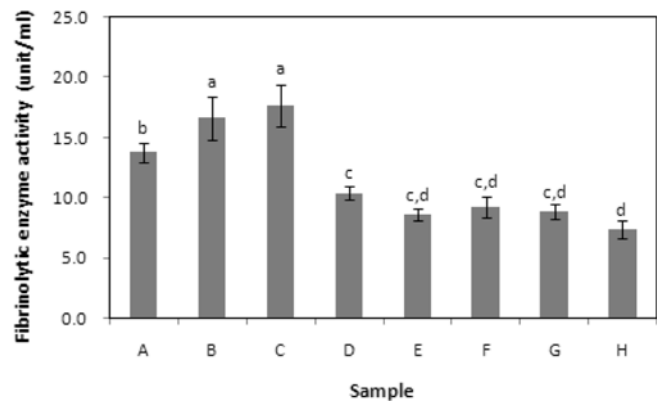


Fig. 5. Fibrinolytic activities of the rice wine. Letters are the same as shown Fig. 2. Bars with different letters (a-d) for each sample are significantly different (LSD test, $p < 0.05$).

D, G 시료가 187.3-188.4 µg/mL의 값으로 높은 활성을 보였고 삼해주 A는 154.9 µg/mL의 값을 보였다. 앞의 다른 항산화 실험 결과와 유사하게 H 시료의 ABTS 라디칼 제거능이 가장 낮았다. Choi 등(16)이 국내산 포도주는 ABTS 라디칼 제거능이 1,000-7,000 µg/mL, 수입 포도주는 10,000 µg/mL의 ABTS 라디칼 제거능을 보여준 것과 본 실험의 결과는 많은 차이를 보였으며 Lee 등(25)이 특정 포도주에서 8,057 µg/mL의 ABTS 라디칼 제거능을 보여준 것과 같은 양상을 보인다. 이는 포도주의 주재료인 포도 유래의 항산화물질 및 포도주의 페놀성 화합물인 resveratrol이 큰 영향을 미쳤을 것으로 예상되며 쌀과 누룩만으로 주조한 삼해주는 비교적 낮은 ABTS 라디칼 제거능을 나타내는 것으로 여겨진다.

혈전용해활성

생체 내에 생성된 혈전을 용해시켜 뇌 혈관질환 및 혈액순환 차단을 예방하는 혈전용해 활성은 Fig. 5에서 확인할 수 있다. 혈전용해 활성은 삼해주 B와 C가 각각 16.6, 17.6 unit/mL로 가장 높은 활성을 나타내었으며 이어서 삼해주 A가 13.8 unit/mL로 높은 활성을 나타내었다. 시판 곡주의 경우 7.3-10.4 unit/mL로 혈전용해 활성이 비교적 낮게 나타났다. Yu 등(26)이 보고한 시판 주류의 생리 기능성에 따르면 혈전 용해 활성이 최고 26.8 unit, 최저 0 unit이었으며, 대부분이 10 unit 미만의 낮은 활성을 나타내었다. 반면 Park 등(27)이 보고한 하향주는 19.1 unit, Han 등(28)

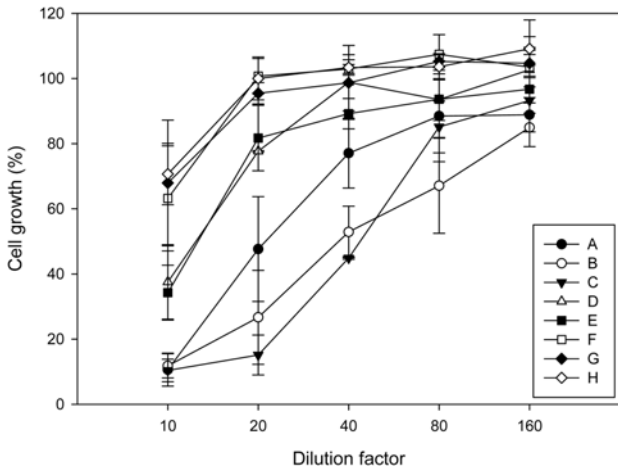


Fig. 6. Inhibitory effect on cell survival of rice wine in HeLa cells. Letters are the same as shown Fig. 2.

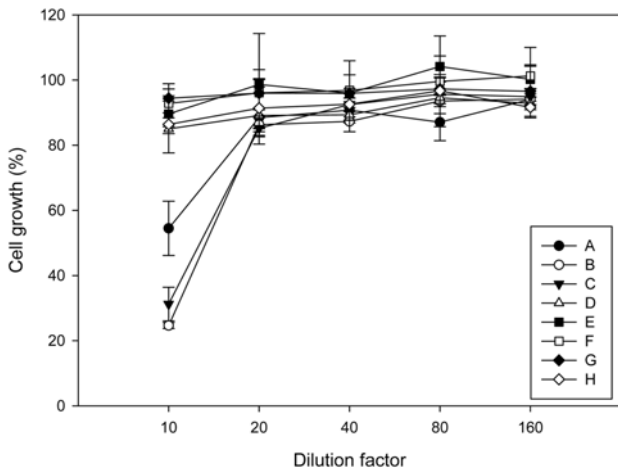


Fig. 7. Inhibitory effect on cell survival of rice wine in A549 cells. Letters are the same as shown Fig. 2.

이 보고한 자색 고구마를 이용한 민속주는 20 unit 정도로 민속주의 혈전용해 활성이 높게 나타났다.

세포독성(cytotoxicity) 측정

인체 자궁암 유래 종양세포인 HeLa 세포에 대한 실험결과는 Fig. 6와 같다. 삼해주 A-C의 경우 10배 희석 배수에서 10.4-11.8%의 세포 성장률을 보여 자궁암 세포에 대한 독성이 매우 강함을 알 수 있다. 반면 D, E 시료의 경우 각각 37.5, 34.3%의 성장률을 보였으며, F-H 시료의 경우 63.2-70.7%로 세포 독성 효과가 매우 낮았고, 희석 배수가 증가할수록 그 효과는 매우 미미하였다. 삼해주 C는 40배까지 희석해도 세포 성장이 50% 미만으로 세포 독성 효과가 매우 강했다. Kim 등(29)은 마우스 유래 유방암 세포주인 EMT6에 대한 세포독성 효과를 본 결과 10배 희석액에서 전통약주가 9.46-11.39%의 강한 저해율을 보인다고 보고하였다.

폐암 세포주인 A549 세포의 경우 시판 곡주에 비하여 삼해주의 세포독성 효과가 강함을 확인할 수 있으나 HeLa 세포와 비교시 그 정도는 약하였다(Fig. 7). 10배 희석 배수에서 B, C 시료가 유사한 세포독성 효과를 보였으며, 시판 곡주는 85-94%의 세포 성장율을 보여 A549 세포에 대한 저해능이 매우 미미한 것

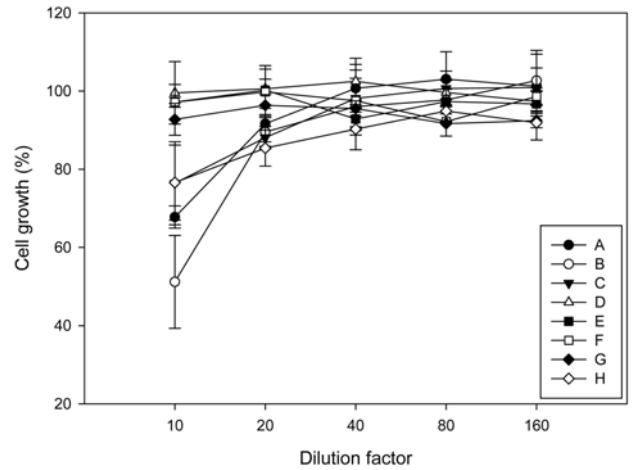


Fig. 8. Inhibitory effect on cell survival of rice wine in L-132 cells. Letters are the same as shown Fig. 2.

으로 보여진다. 삼해주의 경우 20배 희석액에서 85-88%의 성장률로 HeLa 세포에 비해 세포 성장 억제 효과가 적은 것으로 나타났다. Kim 등(29)은 마우스 유래 폐암세포주인 LLC1에 대한 세포독성 실험 결과 10배 희석된 전통주에서만 세포독성이 강하게 나타났고 20배의 희석배수에서는 세포독성이 약하게 나타나 본 실험과 유사한 결과를 보였다.

정상세포인 L-132 세포에 대한 실험결과는 Fig. 8과 같다. 위의 다른 세포와 마찬가지로 삼해주의 독성효과가 크나 암세포인 HeLa 세포에 비해 그 저해율은 낮음을 알 수 있고, 20배 희석액에서는 세포독성 효과가 거의 없는 것으로 나타났다.

곡주의 세포독성 효과는 세포주에 따라 그 정도가 달랐으며, 암세포에 대하여 독성 효과를 나타내는 것은 곡주에 함유된 여러 가지 성분과 발효과정에서 생성되는 물질의 복합 상승에 의하여 항종양 효과를 유도해 낸 것으로 사료된다. 이러한 전통 곡주의 약리적인 면의 상승 작용에 대해서는 향후 광범위한 실험이 더 이루어져야 할 것이다.

암세포의 현미경 관찰

인체유래 자궁암 세포주 HeLa 세포와 정상세포 L-132의 세포 변화를 살펴보기 위해 현미경 관찰을 실시하였다(Fig. 9). 각 10 배 희석배수로 희석된 시료를 처리한 후 72시간 뒤에 나타난 결과를 살펴보면 HeLa 세포의 경우 시료 무처리 시(I) 세포가 뾰뾰하게 분포하여 세포 저해효과가 나타나지 않았지만 삼해주 A(II)와 C(III)를 처리한 경우 세포의 밀도가 감소하였으며, 원형의 모양에서 긴 fibrous 세포 모양으로 변환됨을 볼 수 있다. L-132 세포의 경우에도 시료 무처리 시(IV) 세포 저해 효과가 나타나지 않았으며, 삼해주 A(V)와 C(VI)를 처리한 경우 세포 저해 효과가 나타났지만 그 정도는 HeLa 세포에 비해 약하였다. 데이터로 보여주지 않았지만 모든 시료로 동일한 실험을 진행하였으며, A549 세포는 HeLa 세포와 비슷한 양상을 보였다. 시판 곡주의 경우 그 저해율은 상당히 낮았고, 모두 WST-1 assay 결과와 동일한 것을 확인할 수 있었다.

삼해주가 갖는 항산화 활성 및 약리적인 효과의 일부를 관찰 하였으나 향후 보다 체계적인 실험이 필요하다. 술의 성분들을 분획하여 효과가 있는 성분을 분석해야 할 것이며, 이를 토대로 사라져 가는 반가주의 우수성을 널리 알림으로써 과학적 우수성의 입증과 함께 반가주 복원에 대한 노력이 증대되어야 할 것이다.

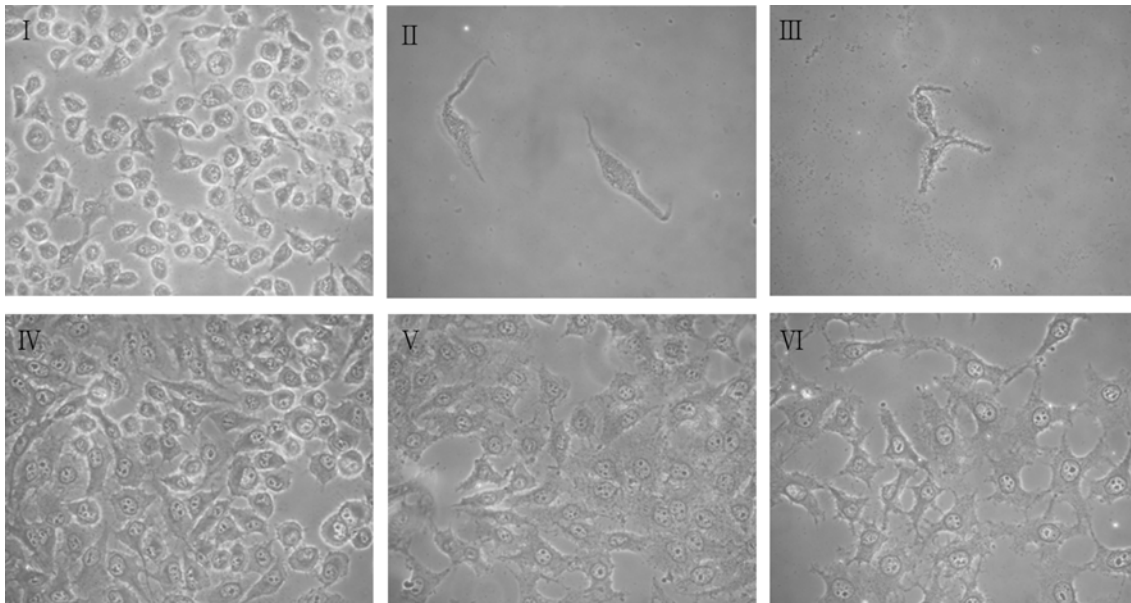


Fig. 9. Morphological changes of cells induced by rice-wine. HeLa cells and L-132 cells were treated with Korean rice wine (10-fold dilution) resulting in magnification of $\times 400$. I, HeLa non-treated; II, HeLa treated sample A; III, HeLa treated sample C; IV, L-132 non-treated; V, L-132 treated sample A; VI, L-132 treated sample C.

요 약

잊혀져가고 있는 전통주의 우수함을 알리고자 한국의 전통 반가주인 삼해주를 제조하고 시판되고 있는 곡주와 비교 실험하며, 생리활성 및 세포독성에 관한 연구를 진행하였다. 기존의 문헌에 소개된 방법을 변형하여 3가지 종류의 삼해주를 제조하였으며, 시중에서 곡주 5종을 구입하여 실험하였다. DPPH 라디칼 제거능과 아질산염 소거능은 곡주 G가 가장 뛰어났으며, ABTS 라디칼 제거능은 삼해주가 가장 우수하였다. 삼해주 중에서는 C 시료가 DPPH 라디칼 제거능, 아질산염 소거능, ABTS 라디칼 제거능이 가장 뛰어났다. 혈전용해능의 경우 삼해주 A-C가 13-17U로 다른 곡주에 비해 그 활성이 높게 나타났다. 각 시료에 대하여 10-160배까지 단계적으로 희석하여 HeLa, A549, L-132 세포에 처리하였을 때, 인체유래 자궁암 세포주인 HeLa 세포의 경우 10배 희석액에서 삼해주가 강한 세포 독성을 보였고, A549 세포의 경우 10배 희석액에서 삼해주의 세포독성 효과가 크나 시료에 따라 그 편차가 심하였다. L-132의 경우 10배 희석액에서 삼해주의 세포독성 효과가 다른 시료에 비해 강하였으나, 다른 암세포에 비해 약한 것을 알 수 있다. 본 연구의 결과에 의하면 삼해주에 존재하는 미지의 약리 성분이 생리 활성 및 암세포의 성장에 영향을 미치는 것으로 판단되었다. 이는 삼해주 제조 시 사용된 누룩과 오랜 발효 기간에 의한 영향으로 생각되며, 누룩에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 여겨진다.

감사의 글

본 연구는 서울시 산학연 협력사업(과제번호: 10625)의 연구비 지원에 의하여 수행된 연구결과와 일부이며, 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Pace-Asicak CR, Hahn S, Diamandis EP, Soleas G, Goldberg

- DM. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: Implications for protection against coronary heart disease. *Clin. Chim. Acta* 235: 207-219 (1995)
2. Miyagi Y, Miwa K, Inoue H. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation by flavonoids in red wine and grape juice. *Am. J. Cardiol.* 80: 1627-1631 (1997)
3. Hayek T, Fuhrman B, Vaya J, Rosenblat M, Belinky P, Coleman R, Elis A, Aviram M. Reduced progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice following consumption of red wine, or its polyphenols quercetin or catechin is associated with reduced susceptibility of LDL to oxidation and aggregation. *Arterioscl. Throm. Vas.* 17: 2744-2752 (1997)
4. Stoewsand GS, Anderson J, Munson L. Inhibition by wine of tumorigenesis induced by ethyl carbamate (urethane) in mice. *Food Chem. Toxicol.* 29: 291-295 (1991)
5. Arimoto-Kobayashi S, Sugiyama C, Harada N, Takeuchi M, Takemura M, Hayatsu H. Inhibitory effects of beer and other alcoholic beverages on mutagenesis and DNA adduct formation induced by several carcinogens. *J. Agr. Food Chem.* 47: 221-230 (1999)
6. Clifford AJ, Ebeler S, Ebeler JD, Bills ND, Hinrichs SH, Teissedre PL, Waterhouse AL. Delayed tumor onset in transgenic mice fed an amino acid-based diet supplemented with fed an amino acid-based diet supplemented with red wine solids. *Am. J. Clin. Nutr.* 64: 748-756 (1996)
7. Kim JH, Lee SH, Kim NH, Choi SY, Yoo JY, Lee JS. Manufacture and physiological functionality of Korean traditional liquors by using dandelion. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 28: 367-371 (2000)
8. Lee DH, Kim JH, Kim NM, Lee JS. Manufacture and physiological functionality of Korean traditional liquors by using chamomile (*Matricaria chamomile*). *Korean J Food Sci. Technol.* 34: 109-113 (2002)
9. Seo SB, Kim JH, Kim NM, Choi SY, Lee JS. Effect of acasia flower on the physiological functionality of Korean traditional rice wine. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 30: 4210-414 (2002)
10. Lee DH, Park WJ, Lee BC, Lee JC, Lee DH, Lee JS. Manufacture and physiological functionality of Korean traditional wine by using *gugija* (*Lycii Fructus*). *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 789-794 (2005)
11. Kim JS, Kwak EJ, Lee YS. Effect on the quality characteristics

- of Korean traditional wines with the addition of rosemary (*Rosmarianus officinalis* L.) Korean J. Food Cook. Sci. 22: 914-922 (2006)
12. Jun YM, Ahn YS, Kim MH. The study on the cases of merchandising and suggestions for improving competitive power of traditional liquor. Korean J. Comm. Living Sci. 17: 3-14 (2006)
 13. Kim HR, Ahn BH. Research trend of Korean traditional alcoholic beverage. Food Ind. Nutr. 6: 5-10 (2001)
 14. Kim IH, Park WS, Koo YJ. Comparison of fermentation characteristics of Korean traditional alcoholic beverage with different in culture. Korean J. Diet. Culture 11: 339-348 (1996)
 15. Hong MS. Forest Economy (new addition). Korean Studies Information Co., Ltd., Seoul, Korea. p. 351 (2007)
 16. Choi YM, Yu KW, Han NS, Koh JH, Lee JS. Antioxidant activities and antioxidant compounds of commercial red wines. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 35: 1286-1290 (2006)
 17. Gray JI, Dugan LR. Inhibition of *N*-nitrosamine formation in model food systems. J. Food Sci. 40: 981-984 (1975)
 18. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Bio. Med. 26: 1231-1237 (1999)
 19. Haverkate F, Traas DW. Dose-response curves in the fibrin plate assay. Fibrinolytic activity of proteases. Thromb. Diath. Haemost. 32: 356-365 (1974)
 20. Guilian T, Zhang T, Yang F, Ito Y. Separation of gallic acid from *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc by high-speed counter-current chromatography. J. Chromato. A 886: 309-312 (2000)
 21. Walker R. Nitrates, nitrites, and *N*-nitrosocompounds: a review of the occurrence in food and diet and the toxicological implication. Food Addit. Contam. 7: 717-768 (1990)
 22. Bartsh H, Ohshima H, Pignatelli B. Inhibitor of endogenous nitrosation: Mechanism and implications in human cancer prevention. Mutat. Res. 202: 307-324 (1998)
 23. Cooney RV, Ross PD. *N*-Nitrosation and *N*-nitrosamine of morpholine by nitrogen dioxide in aqueous solution: Effects of vanillin and related phenols. J. Agr. Food Chem. 35: 789-793 (1987)
 24. Kato H, Lee IE, Chuten NV, Kim SB, Hayase F. Inhibitor of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. Agric. Biol. Chem. Tokyo 51: 1333-1338 (1987)
 25. Lee KW, Kim YJ, Lee HJ, Lee CY. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. J. Agr. Food Chem. 51: 7292-7295 (2003)
 26. Yu HE, Lee DH, Lee JH, Choi SY, Lee JS. Quality characteristics and cardiovascular activities of Korean traditional wines and liquors. Food Sci. Biotechnol. 14: 772-777 (2005)
 27. Park CD, Jung GK, Kim DI, Lee IS, Hong JH. Fermentation and functional properties of Korean traditional liquors, *Hahyangju*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 36: 464-469 (2007)
 28. Han KH, Lee JC, Lee GS, Kim JH, Lee JS. Manufacture and physiological functionality of Korean traditional liquor by using purple-fleshed sweet potato. Korean J. Food Sci. Technol. 34: 673-677 (2002)
 29. Kim SJ, Ko SH, Lee WY, Kim GW. Cytotoxic effects of Korean rice-wine (*yakju*) on cancer cells. Korean. J. Food Sci. Technol. 36: 812-817 (2004)